20 26

UNIVERSITÀ DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

249

I. STEFANELLI - G. PICCI

Sulla riduzione biologica dei nitrati a nitriti

Estratto da *L'Agricoltura Italiana*, Anno L (V N. S.)
Ottobre 1950

ARTI GRAFICHE TORNAR - PISA

UNIVERSITÀ DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

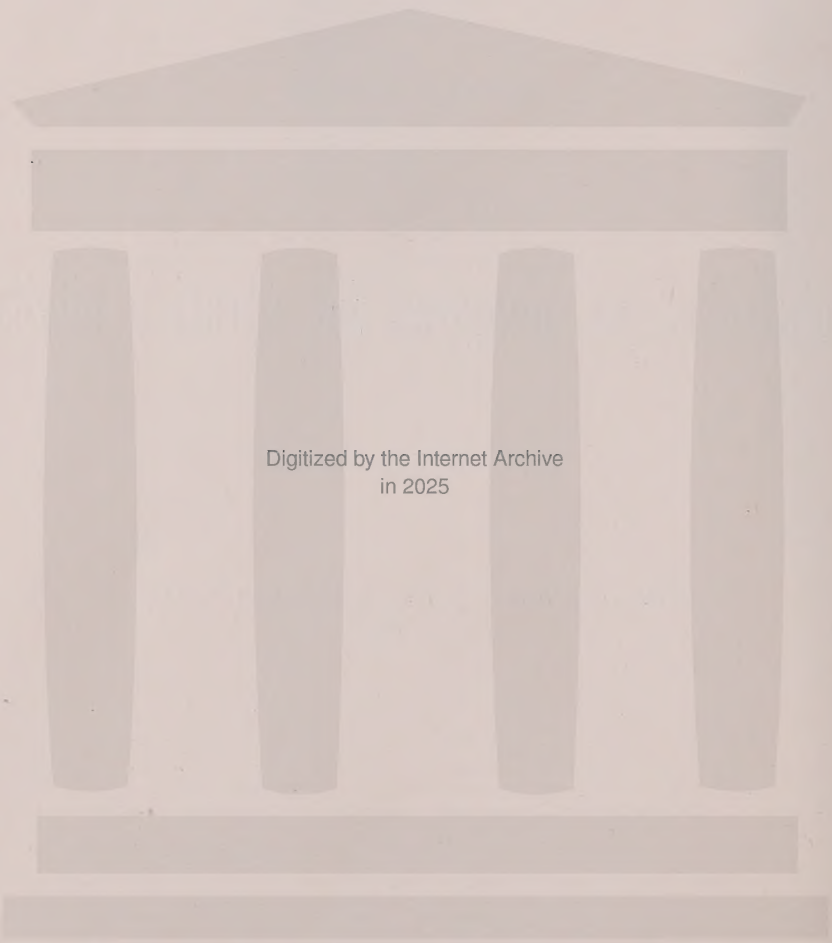
249

I. STEFANELLI - G. PICCI

Sulla riduzione biologica dei nitrati a nitriti

Estratto da *L'Agricoltura Italiana*, Anno L (V N. S.)
Ottobre 1950

ARTI GRAFICHE TORNAR - PISA



Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/universita-di-pisa-osservatorio-regionale-di-fitopatologia_1950-10_249

Sulla riduzione biologica dei nitrati a nitriti

RIASSUNTO - È stata studiata la riduzione dei nitrati a nitriti ad opera di alcune specie di schizomiceti aerobi sporigeni del terreno. Limitatamente ad alcune specie è stato osservato che tale capacità è variamente influenzata dalla natura del catione e dalla concentrazione in nitrato, dalla sorgente di carbonio e dalla reazione del mezzo.

La capacità di ridurre i nitrati a nitriti è comune a molte specie microbiche sia che si tratti di eumiceti che di schizomiceti e quest'ultimi sia che siano asporigeni che sporigeni. Il fatto è biologicamente importante, perchè espressione di un determinato carattere del metabolismo; tanto che, se pure secondariamente, esso assume negli schizomiceti valore diagnostico.

Avendo eseguito le ricerche, di cui qui si riferisce, su schizomiceti sporigeni aerobi il cui habitat normale è il terreno, il fatto presenta altresì importanza pedologica ed agronomica, dato che nel terreno ha sede la formazione di nitrati o nitrati vengono aggiunti a scopo fertilizzante. Può avvenire allora che, per insorgenti fenomeni riduttivi, i nitrati vengano sottratti, insieme a possibili altre cause di dispersione, alle piante coltivate, con conseguente danno biologico ed economico.

Le ricerche in oggetto sono state eseguite con specie di schizomiceti sporigeni, utilizzando all'uopo buona parte dei ceppi che si conservano nella Collezione dell'Istituto. Esattamente fu sperimentato con: *Bac. asterosporus* (MEYER) MIGULA, *Bac. fusiformis* GOTTHEIL, *Bac. malabarensis* LÖHNIS et PILLAI, *Bac. megatherium* DE BARY, *Bac. mesentericus* TREVISAN, *Bac. petasites* GOTTHEIL, *Bac. robur* NEIDE, *Bac. subtilis* COHN, *Bac. vulgatus* TREVISAN (1).

* * *

Una prima prova di orientamento fu eseguita coltivando i ricordati germi in liquido di GILTAY (presente in esso, come è noto, nitrato di potassio) distribuito in piccoli matracci. Seminammo, previa sterilizzazione, con patina proveniente da giovani colture mantenendo i matraccini in termostato a 25° C. La reazione dei nitriti, usandosi il reattivo di GRIESS, venne eseguita periodicamente a breve distanza di tempo, ottenendosi:

---

(1) - I ceppi in parola provengono dalla raccolta del Prof. BREDEMANN e qui sono indicati con il nome di etichetta. Ogni riserva è quindi fatta su quella che può essere la loro esatta definizione sistematica in rapporto, anche e sopratutto, al quadro del BERGEY.

Specie	Reazione
Bac. asterosporus	fortemente positiva già alla 10ª ora
„ *fusiformis*	negativa
„ *malabarensis*	debolissima
„ *megatherium*	negativa
„ *mesentericus*	positiva, ma debole
„ *petasites*	fortemente positiva alla 24ª ora
„ *robur*	negativa
„ *subtilis*	fortemente positiva alla 24ª ora
„ *vulgatus*	positiva, specie dopo 24 ore

Si osserva che non tutte le specie cimentate riducono i nitrati in nitriti non dimostrando di possedere tale attività *Bac. fusiformis, Bac. megatherium, Bac. robur.* Delle altre specie, *Bac. malabarensis* dà una reazione appena percettibile; le altre, infine, danno invece reazione nettamente positiva.

Per avere più esatta nozione del comportamento delle specie riscontrate attive l'esperienza è stata ripetuta (sempre in liquido di GILTAY) dosando quantitativamente, nel tempo, i nitriti via via formatisi. Fu ottenuto:

	Quantità di N_2O_3 (mg. per 100 c.c. di soluz. Giltay) dopo ore:											
	9	26	33	50	55	57	74	81	97	104	112	129
1. *Bac. asterosporus*	—	11,34	18,2	32,0	35,0	—	34,8	—	35,1	—	35,0	34,8
2. „ *mesentericus*	0,70	—	1,62	4,59	—	7,50	7,80	8,0	8,1	8,0	—	—
3. „ *petasites*	0,36	—	12,7	22,0	—	32,2	38,2	40,0	39,1	39,7	—	—
4. „ *subtilis*	—	6,48	16,0	40,0	45,0	—	59,1	—	69,0	72,0	72,4	72,1
5. „ *vulgatus*	—	7,11	10,1	18,0	20,0	—	27,5	—	32,0	34,0	35,0	36,0

Si rileva che la specie più attiva si è dimostrata *Bac. subtilis,* al quale seguono *Bac. asterosporus, Bac. petasites* e *Bac. vulgatus.* Questi più precisi accertamenti quantitativi collimano con i precedenti rilievi orientativi.

* * *

Proseguendo nella ricerca s'è voluto vedere l'eventuale *influenza del catione,* cioè di diversi nitrati, ed esattamente del nitrato di sodio, potassio,

ammonio, calcio, magnesio. Fu mantenuto come base il liquido di GILTAY, salvo sostituire il nitrato di potassio con i nitrati elencati. I sali furono aggiunti in quantità tali da avere in tutti i matracci un uguale contenuto in azoto e ciò per evitare ogni influenza eventualmente dovuta a varie quantità di questo elemento. I risultati figurano nella tabella annessa:

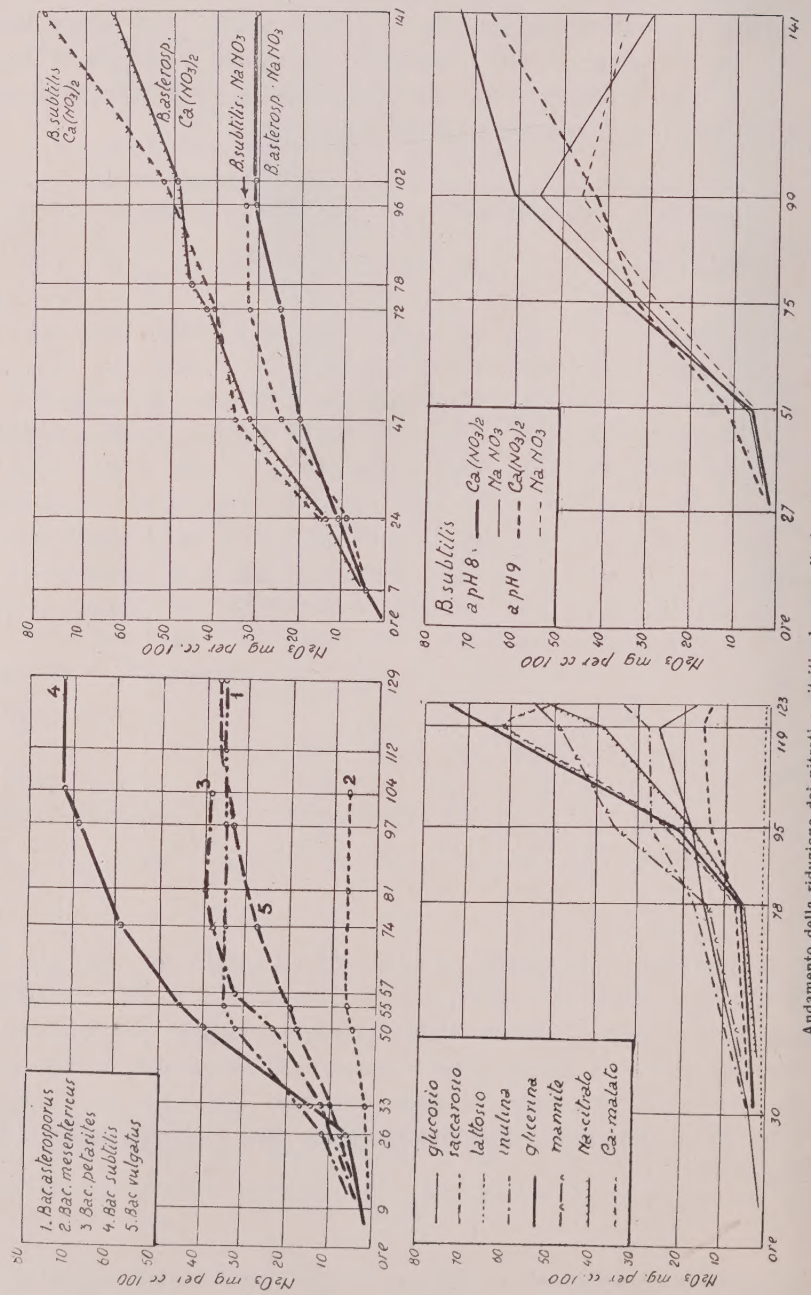
SPECIE	Nitrato sotto forma di	Quantità di N_2O_3 (mg. per 100 c.c. di liquido) dopo ore:									
		7	24	29	47	72	78	96	102	141	190
Bac. asterosporus	KNO_3	5,6	9,1	15,1	19,1	16,8	16,6	17,2	18,1	18,2	19,8
	$NaNO_3$	4,3	10,7	17,8	20,2	24,7	—	31,1	31,1	32,4	35,5
	NH_4NO_3	5,8	9,1	14,6	16,8	—	22,5	—	30,1	—	—
	$Ca(NO_3)_2$	5,8	11,9	27,5	31,6	42,7	45,9	—	49	64,8	80
	$Mg(NO_3)_2$	5,8	12,8	24,7	32,0	49,5	—	52,2	—	113	126
Bac. subtliis	KNO_3	3,2	8,0	20,2	22,9	38,3	—	35,8	—	35	—
	$NaNO_3$	5,1	6,7	14,1	16,5	17,8	19,8	—	37,8	—	—
	NH_4NO_3	5,1	7,7	19,1	20,2	20,9	23,4	—	23,4	—	—
	$Ca(NO_3)_2$	3,6	4,8	31,6	—	40,5	—	45	52,2	—	57
Bac. vulgatus	KNO_3	3,5	5,1	11,2	18,5	—	—	—	19,8	21,6	21,6
	$NaNO_3$	8,3	9,4	19,1	24,7	32,0	—	32	—	—	—
	$NH_4(NO_3)$	6,3	10,7	16,8	18,2	22,5	—	—	23,4	22,5	—
	$Ca(NO_3)_2$	3,6	14,6	31,6	36,4	40,5	—	—	52,2	78,0	104,0
	$Mg(NO_3)_2$	4,1	8,0	14,1	19,1	19,8	—	—	—	35	—

Con riferimento alla tabella ed ai grafici (che abbiamo riportato limitatamente alle due specie più attive, cioè a *Bac. subtilis* e *Bac. asterosporus*) si rileva che i nitrati di calcio e di magnesio vengono più facilmente ed energicamente ridotti a nitriti, rispetto almeno ai nitrati dei metalli alcalini. Nell'ambito di questi differenze di comportamento decise non si intravedono.

Cosa possa influire nel determinare questo diverso comportamento rimane a stabilire.

* * *

Studiato il comportamento rispetto ai vari nitrati è stata quindi indagata l'*influenza della sorgente di carbonio*. Per questa prova, invece del liquido di GILTAY, si è fatto uso del liquido seguente:



Andamento della riduzione dei nitrati a nitriti ad opera di alcuni germi sporigeni del terreno.

acqua	1000	
composto di C	10	(con riferimento a glucosio)
nitrato potassico	2	
fosfato monopotassico	0,5	
cloruro di sodio	0,5	
carbonato sodico	0,3	
solfato di magnesio	0,1	
cloruro di ferro	tr.	

Le varie sorgenti di carbonio sperimentate furono: glucosio, saccarosio, lattosio, inulina, glicerina, mannite, citrato di sodio, malato di calcio, limitatamente a *Bac. asterosporus* e *Bac. subtilis*. Risultò:

SPECIE	Sorgente di carbonio	Quantità di N_2O_3 (mg. per 100 c.c. di soluz.) dopo ore:				
		30	78	95	119	123
Bac. asterosporus	glucosio	4,7	8,9	12,35	19,6	36,0
	saccarosio	5,0	17,6	9,8	9,6	5,6
	lattosio	3,4	2,9	0,8	0,2	0,1
	inulina	1,0	7,9	12,3	26,3	12,9
	glicerina	3,3	4,7	19,1	61,2	77,5
	mannite	3,7	14,4	23,5	47,2	55,0
	Na-citrato	3,8	10,0	15,7	19,4	11,5
	Ca-malato	4,0	33,0	63,5	68,0	71,0
Bac. subtilis	glucosio	2,8	15,3	18,5	25,6	17,1
	saccarosio	3,3	8,5	12,3	16,5	13,0
	lattosio	0,38	0,36	0,31	0,30	0,1
	inulina	3,7	16,8	28,8	29,4	35
	glicerina	4,2	7,2	21,3	63,4	73,5
	mannite	2,7	15,3	36,0	49,7	55,0
	Na-citrato	1,6	6,3	18,5	38,5	52,5
	Ca-malato	3,3	7,6	22,5	61,2	49,5

In rapporto al substrato impiegato si rileva che, tra gli zuccheri, il glucosio è quello che più ha favorita la formazione dei nitriti. Senza azione, perchè scarsamente utilizzato, è il lattosio.

Circa gli altri composti i più attivi, in relazione alla loro utilizzazione, sono stati glicerina e mannite.

* * *

Con lo stesso substrato, presente come sorgente di carbonio glicerina o mannite, si è quindi ricercata l'*influenza di varie concentrazioni in nitrato* — 1-2-5 $^0/_{00}$ — sempre sperimentando con *Bac. asterosporus* e *Bac. subtilis.* Senza riportare, per questa esperienza, i dati relativi fu osservato che la migliore concentrazione in nitrato (tra quelle sperimentate) risponde al 2 $^0/_{00}$, pur ottenendosi risultati apprezzabili anche alla superiore concentrazione del 5 $^0/_{00}$.

* * *

Ultima ricerca fu quella di vedere l'*influenza della reazione del mezzo.* Per questo, prendendo a base il liquido di GILTAY, allestimmo due serie di prove: in una fu aggiunto come sorgente di azoto nitrato di sodio, in altra nitrato di calcio. Il pH fu modificato — entro i limiti di pH 3-pH 9 — con aggiunte di alcali potassico od acido solforico. Come in precedenza, fu sperimentato con *Bac. asterosporus* e *Bac. subtilis.*

Senza riportare ingombranti tabelle riferiamo quanto ci fu dato di osservare:

1) nei limiti di pH 3-5 ad un molto scarso sviluppo microbico corrispose una appena percettibile e trascurabile azione riducente sia del nitrato di sodio, sia del nitrato di calcio, con risultati uguati per i due germi;

2) nella serie alcalina si verificò sempre ottimo sviluppo con evidente formazione di nitriti;

3) il pH ottimo di azione, per i due germi in esperimento, fu tuttavia, nei riguardi della riduzione dei nitrati, pH 6-8;

4) in serie acida il nitrato di sodio sembra più facilmente trasformato del nitrato di calcio; in serie alcalina è invece il nitrato di calcio che più facilmente passa a nitrito.

CONCLUSIONI

Studiata la riduzione dei nitrati a nitriti ad opera di alcuni schizomiceti aerobi sporigeni del terreno, è risultato che non tutte le specie cimentate posseggono tale proprietà. Peraltro, singolarmente attive, sono risultate le seguenti: *Bac. asterosporus, Bac. petasites, Bac. subtilis, Bac. vulgatus.*

Su tale capacità riducente influiscono alcune circostanze:

1) la natura del catione risultando, a quanto pare, più facilmente trasformati i nitrati alcalino-terrosi (nitrato di calcio) che non gli alcalini (nitrato di sodio);

2) la natura della sorgente di carbonio, e ciò verosimilmente in rapporto alla facilità con la quale essa è utilizzata;

3) la concentrazione in nitrato, meglio rispondendo tra quelle sperimentate (1-2-5 $^0/_{00}$) quella del 2 $^0/_{00}$;

4) la reazione del mezzo.

Nei riguardi di quest'ultimo punto fu notato:

a) la riduzione dei nitrati a nitriti è quanto mai scarsa in ambiente acido e ciò in rapporto al pari scarso sviluppo microbico;

b) la reazione migliore apparì quella di pH 6-8;

c) in serie acida il nitrato di sodio sembra più facilmente trasformato del nitrato di calcio; in serie alcalina è invece il nitrato di calcio che più facilmente passa a nitrito.

I. Stefanelli e G. Picci

Istituto di Microbiologia Araria e Tecnica dell'Università di Pisa